Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 14, No. 2, Summer 2022, p. 147-162

The effect of zinc-methionine supplementation to diets containing unsaturated fat on growth performance, health status and some blood parameters of suckling Holstein calves

Kamran Karamnejad[1], Mohsen Sari[2]*, Mehdi Dehghan-Banadaky[3], Hassan Rafiee[4]

Received: 11-02-2021 Revised: 14-08-2021 Accepted: 03-10-2021 Available Online: 14-09-2022	**How to cite this article:** Karamnejad, K., M. Sari, M. Dehghan-Banadaky and H. Rafiee. 2022. The effect of zinc-methionine supplementation to diets containing unsaturated fat on growth performance, health status and some blood parameters of suckling Holstein calves. Iranian Journal of Animal Science Research, 14(2):147-162 DOI: 10.22067/ijasr.2021.68786.1008

Introduction Zinc is part of more than 300 enzymes involved in immunity, metabolism, growth and reproductive functions. This element is essential for the metabolism of nucleic acids, proteins, carbohydrates, the development and proper functioning of immune cells. Therefore, zinc deficiency can affect the performance of animals by reducing appetite and growth and immune system disorders.

Fat supplementation in milk replacer or starter diets has been suggested to improve the energy density of calf diets. Linoleic and alpha-linolenic are two essential fatty acids precursors of eicosanoids, important molecules in regulation of inflammation. Eicosanoids derived from linoleic acid has the inflammatory effects, while Eicosanoids derived from alpha-linolenic acid has anti-inflammatory effects. Adding alpha-linolenic acid in the form of Ca-salt of flaxseed oil to calf starter improves daily weight gain and feed efficiency. It seems to decreasing the ratio of linoleic acid to alpha linolenic acid in the diet have positive effects on the health and immune system of dairy calves.

Zinc has a direct effect on modulating the activity of desaturase enzymes in fatty acid metabolism and also indirectly affects the absorption, oxidation and composition of fatty acids. In addition, zinc participates in the structure of superoxide dismutase, which is an important enzyme in the oxidative process of lipids. Free radicals reaching the cytoplasm are neutralized by this enzyme. The aim of this study was to evaluate the effect of organic supplementation of zinc and dietary Ca-salt of flaxseed oil on growth performance, health status and some blood parameters of Holstein calves.

Materials and Methods A total of Twenty-eight 3-day-old female Holstein calves with a starting average weight of 35.7±2 kg were used based on a completely randomized design with a 2×2 factorial arrangement of treatments and 7 replications per treatment for 49 days (before weaning). The experimental treatments were: 1) Control (CON), 2) diet containing 0.1% Zn-methionine supplement (+Zn), 3) diet containing 2.5% Ca-salt of flaxseed oil supplement (+Fat) and 4) diet containing 2.5% Ca-salt of flaxseed oil supplement with 0.1% Zn-methionine supplement (+Fat +Zn). The calves were housed in individual pens and fed with whole milk and had free access to the feed starter and water. Milk was offered 4 L/d in two equal meals daily at 07:00 and 19:00. All the calves were weighed at the beginning of the experiment and days 14, 28, 42 and 49. Daily weight gain and feed efficiency (gain to feed) were

1- Ph.D. Candidate, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran.
2- Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Ahvaz, Iran.
3- Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
4- Assistant Professor, Animal Science Research Department, Isfahan Agriculture and Natural resources Research and Education Center; Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Isfahan, Iran.
*Corresponding Author Email: m.sari@asnrukh.ac.ir

calculated. Apparent digestibility was determined by the internal marker method of acid-insoluble ash. Changes in skeletal growth and health scores from birth to 42 days were recorded. Blood samples were collected from the jugular vein on last week of the trial (3 h after the morning feeding). Blood parameters data were analyzed using the PROC GLM procedure of SAS (9.1v). Repeated measured data (body weight, feed intake and feed efficiency) were analyzed using the PROC MIXED procedure and health scores were analyzed using a multivariable logistic mixed model (GLIMMIX). Significance among treatments was determined by the Tukey test and results were considered as significant the P-value was less than 0.05.

Results and Discussion This study results showed that the use of Zn-methionine and Ca-salt of flaxseed oil had no significant effect on dry matter intake and growth performance. Daily weight gain tended to increase from day 29 to day 49 in treatments containing fat supplement. Fat supplementation increased dry matter and organic matter apparent digestibility. Addition of zinc-methionine supplement to diets had no effect on apparent nutrient digestibility. Skeletal growth indices did not affect by dietary treatments. Attitude score, nasal discharge, days with fever, days with diarrhea and days with poor attitude were not affected by experimental treatments. Ca-salt of flaxseed oil reduced rectal temperature and improved fecal consistency. Organic Zn did not improve calf health status. Decreased rectal temperature as a result of consuming the source of alpha-linolenic acid may be due to the effects of alpha-linolenic acid and its derivatives eicosanoids in reducing the incidence of inflammatory responses. Interaction among fat and Zn-methionine tended to affect alanine aminotransferase enzyme concentration. Zn-methionine supplement increased the concentration of alkaline phosphatase. Alkaline phosphatase has four Zn element in its active site. This enzyme is involved in calcium absorption and animal growth and is considered as indicator of Zn status. The increase in alkaline phosphatase concentration in the present study can be attributed to the increase in zinc uptake from the source of the organic zinc-methionine.

Conclusion It seems that feeding of Ca-salt of flaxseed oil with high levels of unsaturated fatty acids in dairy calves have a positive effect on calf health status and apparent feed digestibility.

Keywords: Digestibility, Flaxseed Oil, Holstein Calves, Zn-Methionine.

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: https://ijasr.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

تاثیر افزودن مکمل روی-متیونین به جیره‌های حاوی چربی غیر اشباع بر عملکرد رشد، وضعیت سلامتی و برخی فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین

کامران کرم‌نژاد[1]، محسن ساری[2*]، مهدی دهقان بنادکی[3]، حسن رفیعی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۲۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۵/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۱

کرم‌نژاد، ک.، م. ساری، م. دهقان بنادکی و ح. رفیعی. ۱۴۰۱. تاثیر افزودن مکمل روی-متیونین به جیره‌های حاوی چربی غیر اشباع بر عملکرد رشد، وضعیت سلامتی و برخی فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین. پژوهشهای علوم دامی ایران، ۱۴(۲):۱۶۲-۱۴۷.

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثر افزودن مکمل روی-متیونین به جیره‌های با و بدون مکمل چربی نمک کلسیمی روغن کتان بر عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی، رشد اسکلتی، وضعیت سلامتی و برخی فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار انجام شد. در این آزمایش از ۲۸ رأس گوساله ماده هلشتاین ۳ روزه با میانگین وزنی ۲± ۳۵/۷ کیلوگرم در قالب طرح کاملا تصادفی با چینش فاکتوریل ۲×۲ و ۷ تکرار در هر تیمار به مدت ۴۹ روز استفاده شد. تیمارهای آزمایشی شامل، جیره شاهد، جیره حاوی ۰/۱ درصد مکمل روی-متیونین، جیره حاوی ۲/۵ درصد مکمل چربی نمک کلسیمی روغن کتان و جیره حاوی ۲/۵ در صد نمک کلسیمی روغن کتان بعلاوه ۰/۱ در صد مکمل روی-متیونین بودند. ماده خشک مصرفی، عملکرد رشد و شاخص‌های رشد اسکلتی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. تاثیر برهمکنش بین چربی و روی-متیونین بر غلظت آنزیم آلانین آمینوترانسفراز تمایل به معنی داری داشت و کمترین غلظت در تیمار شاهد و بیشترین غلظت در تیمار حاوی روی مشاهده شد. استفاده از مکمل چربی موجب افزایش قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی و کاهش دمای مقعد و امتیاز مدفوع شد. غلظت آنزیم آلکالین فسفاتاز تحت تاثیر مکمل روی-متیونین افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد که تغذیه روغن محافظت شده کتان با سطوح بالای اسیدهای چرب غیراشباع در گوساله‌های شیرخوار تاثیر مثبتی بر وضعیت سلامت گوساله‌ها و قابلیت هضم ظاهری خوراک داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: روغن کتان، روی-متیونین، قابلیت هضم، گوساله هلشتاین.

مقدمه

تأمین مناسب مواد معدنی کم نیاز به‌ویژه عنصر روی در هنگام بروز عوامل تنش‌زا، موجب بهبود عملکرد سیستم ایمنی بدن می شود و به کاهش تنش اکسیداتیو کمک می‌کند (Suttle, 2010). عنصر روی در بیش از ۳۰۰ آنزیم درگیر در سیستم ایمنی، متابولیسم، رشد و عملکرد های تولید مثلی وجود دارد. این عنصر برای متابولیسم اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، توسعه و عملکرد مناسب سلول‌های ایمنی B و T ضروری است. بنابراین کمبود عنصر روی می‌تواند از طریق کاهش اشتها، کاهش رشد و اختلال سیستم ایمنی بر عملکرد حیوانات تاثیر منفی بگذارد (McDowell, 1992; McDowell, 2003). در مقایسه با گاوهای شیری بالغ، نیازهای مواد

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان. ملاثانی، اهواز، ایران.
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، اهواز، ایران.
۳- استاد، گروه علوم دامی، دانشکدگان علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
۴- استادیار، گروه تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان؛ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: m.sari@asnrukh.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.2021.68786.1008

معدنی کم‌نیاز در گوساله‌های شیری کمتر شناخته شده است (Drackley, 2008). محققان دریافتند گوساله‌هایی که مکمل روی-متیونین مصرف کرده بودند نسبت به گوساله‌هایی که مکمل روی دریافت نکرده بودند وزن شیرگیری بالاتری داشتند (Spears and Keeley, 1991).

مصرف مکمل روی-متیونین در گوساله‌ها موجب افزایش کیفت گوشت، امتیاز چربی درون بافتی گوشت، میزان چربی خارجی و چربی کلیه، لگن و قلب نسبت به گروه شاهد و اکسید روی شده است (Greene et al., 1998). این مطالعه نشان می‌دهد که احتمالا روی در متابولیسم چربی نیز نقش دارد. گوساله‌های تازه متولد شده برای مصرف ماده خشک محدودیت دارند و کربوهیدرات‌های با منبع غلات بخش عمده جیره آغازین آنها است. جیره‌های آغازین معمولا چربی پایینی دارند و نسبت اسید چرب لینولئیک به آلفا لینولنیک در آن‌ها بالا می‌باشد که می‌تواند رشد و افزایش وزن طبیعی گوساله‌ها را بهبود بخشد (Hill et al., 2007c). استفاده از مکمل چربی در جیره آغازین به منظور بهبود میزان انرژی جیره‌های گوساله پیشنهاد شده است (Doolatabad et al., 2020). افزودن اسیدهای چرب خاص به جایگزین شیر و جیره آغازین گوساله‌ها موجب بهبود میانگین افزایش وزن روزانه و بازده مصرف خوراک و کاهش امتیاز مدفوع در گوساله‌های هلشتاین شده است (Hill et al., 2009; Hill et al., 2007b; Hill et al., 2007c). اسیدهای چرب ضروری لینولئیک و آلفا لینولنیک، پیش ساز ایکوزانوئیدها می‌باشند و نقش مهمی در تنظیم التهاب دارند (Simopoulos, 2002). با این‌حال، این اسیدهای چرب عملکردهای فیزیولوژیکی مخالف یکدیگر دارند. ایکوزانوئیدهای مشتق شده از لینولئیک اسید دارای اثرات التهابی می‌باشند، در حالی‌که ایکوزانوئیدهای حاصل از آلفا لینولنیک اسید اثرات ضد التهابی دارند (Patterson, 2012). افزودن آلفا لینولنیک اسید به شکل نمک کلسیمی روغن کتان به جیره آغازین گوساله‌های شیرخوار موجب بهبود افزایش وزن روزانه و بازده خوراک می‌شود (Hill et al., 2009). به نظر می‌رسد که کاهش نسبت لینولئیک اسید به آلفا لینولنیک اسید در جیره تاثیرات مثبتی بر سلامتی و عملکرد سیستم ایمنی بدن گوساله‌های شیرخوار دارد (Garcia et al., 2015). همچنین نشان داده شده است که گوساله‌های تغذیه شده با روغن کتان، درجه حرارت مقعد پایین‌تر و روزهای اسهالی کمتری داشتند، که می‌تواند با نسبت بالای آلفا لینولنیک اسید و اثرات ضد التهابی آن ارتباط داشته باشد (Garcia Orellana, 2012; Kadkhoday et al., 2017). هیل و همکاران (Hill et al., 2011; Hill et al., 2007a) نشان دادند که تغذیه مقدار ۱/۳۳ در صد آلفا لینولنیک اسید اثرات مثبتی بر سلامت و سیستم ایمنی گوساله‌ها دارد و غلظت بالای آلفا لینولنیک اسید در جیره آغازین، تعداد روزهای اسهال گوساله‌ها را کاهش می‌دهد. با توجه به مطالعات انجام شده احتمالا افزودن مکمل چربی می‌تواند موجب بهبود عملکرد رشد و سیستم ایمنی گوساله شود.

علائم کمبود روی و کمبود اسیدهای چرب ضروری که شامل عقب ماندگی رشد، تاخیر در بلوغ جنسی، ناباروری، ضایعات پوستی و کاهش سرعت بهبودی زخم‌ها است، شباهت‌های قابل توجهی دارند (Cunnane and Krieger, 1988). اگر چه نقش عنصر روی در متابولیسم اسیدهای چرب هنوز به‌طورکامل مورد بررسی قرار نگرفته است اما عنصر روی بر تعدیل فعالیت آنزیم‌های اشباع زدا در متابولیسم اسیدهای چرب تاثیر مستقیم دارد و بر جذب، اکسیداسیون و ترکیب اسیدهای چرب نیز به‌طور غیر مستقیم، اثرگذار است (Cunnane and Krieger, 1988). محققان بر اساس افزایش غلظت لینولئیک اسید و کاهش غلظت آراشیدونیک اسید در بافت‌های مختلف حیوانات دچار کمبود روی، نشان دادند که عنصر روی بر فرآیند غیر اشباع سازی لینولئیک اسید نیز تاثیر دارد (Eder and Kirchgessner, 1996). این فرضیه با کاهش فعالیت آنزیم‌های دلتا-۵ و دلتا-۶ اشباع زدا در بافت‌های مختلف موش صحرایی دچار کمبود عنصر روی تایید شده است (Ayala and Brenner, 1983).

علاوه بر این عنصر روی در ساختار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز که یک آنزیم مهم در فرآیند اکسیداتیو لیپیدها است شرکت می‌کند. رادیکال‌های آزاد رسیده به سیتوپلاسم توسط این آنزیم خنثی می‌شود (McDowell, 2003). کمبود روی باعث افزایش پراکسیداسیون لیپیدها می شود و این فرآیند می‌تواند توسط مکمل عنصر روی مهار شود. در آزمایشی، استفاده از مکمل روی در تغذیه گوساله‌های گاومیش نشان داد پراکسیداسیون لیپید در گوساله‌های شاهد بیشترین مقدار و در گوساله‌های تغذیه شده با ۱۴۰ بخش در میلیون روی کمترین مقدار بود (Parashuramulu et al., 2015). بنابراین عنصر روی به شکل غیر مستقیم می‌تواند در متابولیسم و جذب اسیدهای چرب در بدن دخالت کند (McDowell, 2003; Parashuramulu et al., 2015).

طبق بررسی‌های صورت گرفته، تاکنون مطالعه‌ای که تاثیر مکمل روی-متیونین را در جیره آغازین حاوی مکمل چربی با اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه در گوساله‌های شیرخوار مورد بررسی قرار داده باشد در دست نیست. هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر مکمل روی-متیونین و نمک کلسیمی روغن کتان بر عملکرد رشد، وضعیت سلامتی و برخی فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار هلشتاین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

محل و روش اجرای طرح

مطالعه حاضر در شهریور ماه ۱۳۹۸ در گاوداری صنعتی نگین فام

خوز ستان واقع در ۲۳ کیلومتری شهر ستان ایذه در ا ستان خوز ستان انجام پذیرفت. تعداد ۲۸ رأس گوساله ماده هلشتاین سه روزه، با میانگین وزنی ۲± ۳۵/۷ کیلوگرم در قالب طرح کاملا تصادفی با چینش فاکتوریل ۲×۲ با چهار تیمار و ۷ تکرار ا ستفاده شد. گو ساله‌ها به قفس‌های انفرادی فلزی (۱/۶ × ۱ متر) ضد عفونی شده منتقل شدند و به مدت ۴۹ روز (تا زمان از شیرگیری) مورد بررسی قرار گرفتند. گوساله‌ها در طول زمان شیرخوارگی تا ۲۸ روزگی، روزانه چهار لیتر و از ۲۸ تا ۴۹ روزگی روزا نه پنج لیتر شیر طی دو و عده در ساعت‌های ۷:۰۰ و ۱۹:۰۰ دریافت می‌کردند. جیره‌های آزمایشی شامل، جیره شاهد (بدون مکمل چربی و مکمل روی-متیونین) ،جیره بدون مکمل چربی حاوی ۰/۱ درصد مکمل روی-متیونین (معادل ۱۲۰ میلی‌گرم روی)، جیره با ۲/۵ در صد مکمل چربی نمک کا سیمی روغن کتان، بدون مکمل روی-متیونین و جیره با ۲/۵ درصد مکمل نمک کلسیمی روغن کتان بعلاوه ۰/۱ درصد مکمل روی-متیونین بودند. منبع چربی در آزمایش حا ضر نمک کا سیمی روغن کتان تحت عنوان تجاری پر شیا فت محصول شرکت کیمیا دانش الوند بود. منبع روی مورد استفاده، کمپلکس آلی روی-متیونین Availa-Zn 120 (Zinpro Corporation, USA) بود که هر کیلوگرم ماده خشک آن حاوی ۱۲۰ گرم عنصر روی می‌باشد. گو ساله‌ها از روز چهارم آزمایش با کنسانتره‌های آغازین تغذیه شدند و از هفته دوم آزمایش ۱۰ در صد علوفه خشک و مرغوب یونجه در اختیار گوساله‌ها قرار گرفت. مواد خوراکی تشکیل دهنده و ترکیب شیمیایی جیره‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.

جمع‌آوری داده‌ها

طی دوره آزمایشی، جیره‌ها به صورت روزانه پس از توزین در دو نوبت و در ساعت‌های ۸:۰۰ و ۱۶:۰۰ همراه با آب تازه در اختیار گوساله‌ها قرار گرفتند. جهت اندازه‌گیری مقدار خوراک مصرفی، قبل از ریختن خوراک وعده صبح، باقیمانده خوراک روز قبل جمع آوری و ثبت شد. جهت تعیین عملکرد ر شد و تغییرات وزن گو ساله‌ها پس از تعیین وزن همه گوساله‌ها در ابتدای آزمایش، وزن کشی در روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲ و ۴۹ انجام شد. افزایش وزن روزانه با تقسیم اختلاف وزن طی فواصل وزن کشی بر تعداد روزها بدست آمد. همچنین بازده مصرف خوراک با تقسیم میانگین افزایش وزن روزانه به ماده خشک مصرفی روزانه محاسبه شد.

در این آزمایش از روش نشانگر داخلی خاکستر نامحلول در اسید برای تعیین میزان قابلیت هضم ظاهری در کل دستگاه گوارش استفاده شد (Van Keulen and Young, 1977). بدین منظور در چهار روز انتهایی آزمایش، مقدار خوراک مصرفی و باقیمانده خوراک روزانه هر حیوان قبل از خوراک وعده صبح توزین شد و در حدود ۱۰ درصد آنها به همراه ۱۰۰ گرم نمونه مدفوع هر حیوان در کیسه‌های پلاستیکی داخل فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند.

پس از پایان چهار روز جمع آوری، کل نمونه‌ها مربوط به خوراک، باقیمانده خوراک و مدفوع هر دام با هم مخلوط شدند و با استفاده از آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. پروتئین خام، چربی خام و خاکستر نمونه‌ها بر اساس روش AOAC (AOAC, 2012) و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی با روش ون سو ست و همکاران (Van Soest et al., 1991) تعیین شدند.

جهت بررسی تغییرات رشد اسکلتی، صفاتی مانند ارتفاع بدن (فاصله بین سطح زمین در قسمت پاهای جلویی تا جدوگاه)، ارتفاع هیپ (فاصله استخوان هیپ لگن تا سطح زمین)، عرض هیپ (فاصله بین استخوان تروکانتر بزرگ چپ و راست)، طول بدن (فاصله بین شانه‌ها تا کپل)، دور سینه (دور قفسه سینه) و عمق بدن (دور شکم) گوساله‌ها در شروع آزمایش و روز انتهایی آزمایش (روز ۴۹) اندازه گیری و ثبت شد (Lesmeister and Heinrichs, 2005).

امتیاز سلامت به‌صورت جداگانه برای هر گوساله به‌صورت روزانه ثبت شد. امتیاز گو ساله‌ها از زمان تولد تا ۴۲ روزگی با توجه به روش امتیازدهی دانشگاه ویسکانسین- مادیسون ثبت شد (Conneely, 2014). دمای مقعد نیز به این روش امتیاز داده شد که ۳۷/۷ تا ۳۸/۲ درجه امتیاز صفر، ۳۸/۳ تا ۳۸/۸ درجه امتیاز یک، ۳۸/۹ تا ۳۹/۴ درجه امتیاز دو و گو ساله‌های با دمای مقعد بالاتر از ۳۹/۵ درجه سانتی‌گراد دارای امتیاز سه و به عنوان حیوانات تب‌دار در نظر گرفته شدند. امتیاز حالت شامل، امتیاز صفر هوشیار و جستجوگر، امتیاز یک غیرفعال، امتیاز دو افسرده و بی حال و امتیاز سه در حال مرگ بود. گوساله‌های با امتیاز حالت بزرگتر از یک به عنوان حالت ضعیف طبقه‌بندی شدند. کلیه گوساله‌ها بر اساس برنامه واکسیناسیون موجود در گاوداری واکسینه شدند.

در هفته انتهایی آزمایش، سه ساعت پس از مصرف خوراک صبح از طریق سیاهرگ وداج گردنی از تمامی گوساله‌ها خون‌گیری انجام شد. خون گرفته شده در دو لوله جداگانه یکی حاوی هپارین برای بد ست آوردن پلا سما و دیگری بدون هپارین برای سرم ریخته شد. نمونه‌های خون در جعبه حاوی یخ خشک به آزمایشگاه انتقال داده شد، به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ (با سرعت ۳۰۰۰ دور دقیقه) و پلاسما و سرم آنها جدا شدند. نمونه‌های پلاسما و سرم تا زمان اندازه‌گیری، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، پروتئین کل، اوره، آنزیم های آلکالین فسفاتاز، آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در نمونه‌های جمع‌آوری شده با استفاده از کیت‌های آزمایشگاهی (شرکت پارس آزمون، ایران) و با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر (Auto Analyser BS-200 MINDRAY, France)

انجام شد.

جدول ۱- اجزای جیره غذایی (درصد ماده خشک) و ترکیب شیمیایی جیره‌های آزمایشی
Table 1- Ingredients (% of dry matter) and chemical composition of experimental diets

اجزاء جیره Ingredient	تیمارها Treatments شاهد CON	 روی–متیونین +Zn	 چربی +Fat	 چربی + روی–متیونین +Fat +Zn
جو Barley grain, ground	11	11	11	11
ذرت Corn grain, ground	49.7	49.6	47	46.9
کنجاله سویا Soybean meal	36	36	36.2	36.2
نمک کلسیمی روغن کتان[۱] Ca salt of flaxseed oil	0	0	2.5	2.5
بی‌کربنات سدیم Sodium bicarbonate	0.8	0.8	0.8	0.8
دی کلسیم فسفات Dicalcium phosphate	0.5	0.5	0.5	0.5
کلسیم کربنات Calcium carbonate	0.5	0.5	0.5	0.5
مکمل روی–متیونین[۲] Availa Zn-120	0	0.1	0	0.1
نمک Salt	0.5	0.5	0.5	0.5
مکمل ویتامینی– معدنی[۳] Vitamins and minerals premix	1	1	1	1
ترکیب شیمیایی Chemical composition				
ماده خشک (درصد) Dry matter (%)	90.6	90.6	89.9	89.9
پروتئین خام (درصد) Crud protein (%)	21.23	21.22	21.10	21.10
چربی خام (درصد) Ether extract (%)	2.84	2.84	5.20	5.20
الیاف نامحلول در شوینده خنثی (درصد) Neutral Detergent Fiber (%)	11.54	11.54	11.29	11.29
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی (درصد) Acid Detergent Fiber (%)	5.62	5.62	5.53	5.53
کربوهیدرات‌های غیر الیافی (درصد) Non-fiber carbohydrates (%)	55.36	55.36	53.41	53.32
کلسیم (درصد) Calcium (%)	0.93	0.93	1.14	1.14
فسفر (درصد) Phosphorus (%)	0.77	0.77	0.76	0.76
انرژی خالص رشد (مگاکالری بر کیلوگرم ماده خشک) Net energy growth (Mcal/kg of DM)	1.36	1.36	1.44	1.44

[۱] نمک کلسیمی روغن کتان، پرشیافت، شرکت کیمیا دانش الوند، ایران. ۸۴ درصد چربی و ۹ درصد کلسیم.
[۲] کمپلکس آلی روی–متیونین، شرکت زینپرو، آمریکا، حاوی ۱۲۰ گرم عنصر روی در کیلوگرم ماده خشک.
[۳] هر کیلوگرم مکمل حاوی ۸۰۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین A، ۱۵۰ هزار واحد بین‌المللی ویتامین D، ۲ هزار واحد بین‌امللی و یتامین E، ۲ گرم آنتی‌اکسیدان، ۱۶۰ گرم کلسیم، ۲۰ گرم فسفر، ۴۰ گرم منیزیم، ۴ گرم منگنز، ۳ گرم آهن، ۳ گرم مس، ۳ گرم روی، ۸۰ میلی‌گرم ید، ۵۰ میلی‌گرم کبالت و ۶۰ میلی‌گرم سلنیوم.

[1] Ca-salts of flaxseed oil, Persiafat, Kimiya Danesh Alvand Co. Iran., contained 84% fat and 9% Ca (0.16% $C_{14:0}$, 5.74% $C_{16:0}$, 0.18% $C_{16:1}$, 4.3% $C_{18:0}$, 18.88% $C_{18:1}$, 14.15% $C_{18:2}$, 55.95% $C_{18:3}$, 0.64% other).
[2] Availa Zn-120, Zinpro Corporation, USA, Containing 120 g Zn per Kg DM.
[3] The supplements including: 800,000 IU vitamin A, 150,000 IU vitamin D, 2,000 IU vitamin E, 2 g antioxidant, 160 g Ca, 20 g P, 40 g Mg, 4 g Mn, 3 g iron, 3 g copper, 3 g zinc, 80 mg iodine, 50 mg cobalt and 60 mg of selenium per kg DM.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های مربوط به فراسنجه‌های خونی با استفاده از رویه GLM، داده‌های تکرار شونده (وزن بدن، مصرف خوراک و بازده مصرف خوراک) با رویه Mixed و داده‌های مربوط به وضعیت سلامتی

گوســـاله‌ها با اســـتفاده از رویه GLIMMIX نرم افزار آماری SAS (نســـخه ۹/۱) در قالب طرح کاملا تصـــادفی با چینش فاکتوریل ۲×۲ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جهت مقایســـه میانگین حداقل مربعات از آزمون توکی استفاده شد و سطح معنی‌داری در رابطه با کلیه فراسنجه‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

مصرف ماده خشک و عملکرد رشد

نتایج اسـتفاده از مکمل روی-متیونین و مکمل چربی بر مصـرف ماده خ شک و عملکرد ر شد گو ساله‌ها در جدول ۲ ارائه شده ا ست. نتایج بد ست آمده ن شان داد که افزودن مکمل روی-متیونین و نمک کلسیمی روغن کتان و برهمکنش آنها تاثیری بر مصرف ماده خشک، وزن بدن، افزایش وزن روزانه و بازده مصرف خوراک گوساله‌ها نداشته اســـت. افزایش وزن روزانه از ۲۹ تا ۴۹ روزگی در تیمارهای حاوی مکمل نمک کلســـیمی روغن کتان نســـبت به تیمارهایی بدون مکمل چربی تمایل به افزایش نشـان داد (P=۰/۱۰). بر اسـاس بررسـی‌های صـورت گرفته مطالعه‌ای که برهمکنش چربی و عنصـر روی را مورد بر رسی قرار داده با شد در د ست نیست. انتظار می‌رفت با میزان چربی موجود در جیره، مراکز سـیری مغز تحت تأثیر قرار گرفته و مصـرف ماده خشک محدود شود (Allen, 2000) ولی چنین نتیجه‌ای مشاهده نشـد. موافق با این یافته با اسـتفاده از نمک کلسـیمی روغن‌های غیر ا شباع سویا و ماهی به میزان دو در صد جیره تفاوتی در مقدار م‌صرف ماده خشـک گوسـاله‌ها قبل و بعد از شـیرگیری مشـاهده نشـد (Jolazadeh et al., 2019). همچنین هیل و همکاران (Hill et al., 2015) نیز گزارش کردند مصـرف جیره آغازین حاوی چربی پیه یا روغن سویا در گو ساله‌های شیرخوار تاثیری بر م صرف ماده خ شک ندارد. در مقابل کاهش مصـرف ماده خشـک با مصـرف مکمل چربی مخلوط در جیره گوسـاله‌ها گزارش شـده اسـت (Ghasemi et al., 2017). احتمالا تفاوت در یافته‌ها می‌تواند به دلیل سـطح کل چربی جیره، الگوی اسیدهای چرب و تفاوت در مقدار شیر مصرفی باشد.

جدول ۲- تاثیر جیره‌های آزمایشی بر ماده خشک مصرفی و عملکرد رشد گوساله‌ها

Table 2- Effect of experimental diets on dry matter intake and growth performance of calves

مورد Item	تیمارها Treatments شاهد CON	روی-متیونین +Zn	چربی +Fat	چربی + روی-متیونین +Fat +Zn	SEM	P- value Fat	Zn	Fat×Zn
ماده خشک مصرفی (کیلوگرم بر روز) Dry matter intake (kg/d)								
روز ۳ تا ۲۸ Day 3- 28	177.0	190.9	192.8	202.9	27.9	0.62	0.67	0.94
روز ۲۹ تا ۴۹ Day 29- 49	559.7	602/4	633.0	601.6	53.6	0.50	0.91	0.49
روز ۳ تا ۴۹ Day 3- 49	368.4	396.7	412.9	402.3	37.7	0.51	0.81	0.61
وزن بدن (کیلوگرم) Body weight (kg)								
روز ۳ Day 3	35.5	36.0	35.2	35.5	1.01	0.71	0.74	0.92
روز ۲۸ Day 28	41.6	42.2	42.2	41.8	1.26	0.94	0.92	0.66
روز ۴۹ Day 49	52.1	53.0	54.4	53.7	1.77	0.32	0.93	0.59
افزایش وزن روزانه (کیلوگرم بر روز) Average daily gain (kg/d)								
روز ۳ تا ۲۸ Day 3- 28	0.241	0.250	0.278	0.251	0.034	0.59	0.80	0.60
روز ۲۹ تا ۴۹ Day 29- 49	0.420	0.430	0.486	0.477	0.035	0.10	0.98	0.77
روز ۳ تا ۴۹ Day 3- 49	0.330	0.340	0.382	0.364	0.029	0.11	0.86	0.54
بازده مصرف خوراک Feed efficiency								
روز ۳ تا ۲۸ Day 3- 28	0.322	0.320	0.362	0.321	0.042	0.62	0.60	0.65
روز ۲۹ تا ۴۹ Day 29- 49	0.401	0.397	0.401	0.424	0.026	0.61	0.73	0.61
روز ۳ تا ۴۹ Day 3- 49	0.365	0.370	0.390	0.380	0.021	0.40	0.94	0.94

میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

در ارتباط با عملکرد رشـد، اسـتفاده از مخلوط چربی پالم، روغن سـویا و روغن ماهی در جیره آغازین باعث کاهش معنی‌دار افزایش وزن روزانه و وزن نهایی در مقایسـه با تیمارهای شـاهد، چربی پالم، روغن سویا و پیه در گوساله‌ها شده است (Ghasemi et al., 2017) که مطابق با یافته‌های آزمایش حاضر نمی‌باشد. در حالیکه کدخدایی و همکاران (Kadkhoday et al., 2017) نشـان دادند تغذیه مکمل چربی به شکل نمک کلسیمی روغن کتان موجب افزایش وزن نهایی و بازده مصرف خوراک می شود. افزودن آلفا لینولنیک اسید به شکل روغن کتان کلسیمی شده به جیره آغازین گوساله‌های کمتر از سه ماه موجب افزایش وزن روزانه و بازده مصـرف خوراک بالاتر می‌شـود (Hill et al., 2009). به نظر می‌رسد که افزایش غلظت آلفا لینولنیک اسـید نسـبت به لینولئیک اسـید در جیره اثرات مثبتی بر سـلامتی و سیستم ایمنی گوساله‌های شیری دارد (Garcia et al., 2015). اگرچه در آزمایش حاضـر برخی اثرات مثبت بر فراسـنجه‌های سـلامتی در گوسـاله‌های شـیرخوار مشـاهده شـد ولی این تغییرات به بهبود در عملکرد گوساله‌ها منتهی نشد.

بررسـی ها گزارش کردند تغذیه منابع مختلف روی تاثیری بر مصرف خوراک گوساله‌های هلشتاین ندارد (Wright and Spears, 2004). یافته مشابهی نیز توسط سایر محققین هنگامی که از منابع سولفاته، هیدروکسیله و کمپلکس آلی اسید آمینه‌ای مواد معدنی کم‌نیاز از جمله روی استفاده کردند، گزارش شد (Ryan et al., 2015). این نتایج در راستای یافته‌های آزمایش حاضر می‌باشد. جیره‌های با کمبود عنصـر روی و یا روی کافی (۷ و ۵۰ میلی‌گرم روی بر کیلوگرم) و حاوی ۲۲ درصـد کره کاکائو (چربی اشـباع) و یا روغن گلرنگ (منبع لینولئیک اسـید) در تغذیه موش‌های در حال رشـد نشـان دادند که جیره‌های با کمبود عنصـر روی نسـبت به جیره‌های با روی کافی موجب افت افزایش وزن روزانه می شوند (Justus and Weigand, 2014). اضـافه کردن عنصـر روی به جیره، از طریق کاهش نسـبت اسـید اسـتیک به اسـید پروپیونیک سـبب افزایش بازده انرژی جیره می‌شـود و می‌تواند اثر مثبت بر افزایش وزن نشـخوارکنندگان داشـته باشـد (Eryavuz and Dehority, 2009) که چنین تاثیر مثبتی در آزمایش حاضر مشاهده نشد. تفاوت در نوع متابولیسم فرم آلی عنصر روی در مقایسـه با فرم معدنی آن موجب تغییر در برخی فرآیندهای متابولیک شده و بهبود عملکرد رشد در برخی حیوانات که مکمل آلی عنصر روی را دریافت کرده‌اند می‌تواند ناشی از افزایش زیست فراهمی این عنصر باشد (Mandal et al., 2007).

قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی

نتایج ارائه شده در جدول ۳ نشان می‌دهد قابلیت هضم ظاهری ماده خشـک تحت تاثیر افزودن مکمل چربی به جیره افزایش معنی‌داری نشان داد (P=۰/۰۱). همچنین قابلیت هضم ماده آلی نیز در تیمارهای حاوی مکمل چربی نسبت به تیمارهای بدون چربی افزایش یافت (P<۰/۰۰۱). اما افزودن مکمل روی-متیونین به جیره‌های با و بدون مکمل چربی تاثیری بر قابلیت هضـم ظاهری پروتئین خام، چربی خام، الیاف نامحلول در شـوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نداشت. افزودن مکمل چربی در جیره‌ها ممکن است تاثیر منفی بر رشـد باکتری‌ها و قابلیت هضـم فیبر داشـته باشـد (Jenkins, 1993). این اثرات منفی مصرف مکمل چربی را می‌توان با اسـتفاده از چربی‌های محافظت شـده، که با تجزیه‌پذیری پایین از شـکمبه عبور می‌کند و در روده کوچک برای هضـم آزاد می‌شـوند، کاهش داد. در آزمایش حاضـر نمک کلسـیمی روغن کتان به‌صـورت محافظت شـده بوده اسـت و بنابراین انتظار نمی‌رفت تاثیر منفی بر عملکرد شکمبه و قابلیت هضم مواد مغذی داشته باشد. هنگام استفاده از دو درصد نمک کلسیمی روغن سویا و روغن ماهی تفاوتی در قابلیت هضـم ظاهری مواد مغذی در گوسـاله‌ها شـیری مشـاهده نشـد (Jolazadeh et al., 2019). نتایج مشـابهی نیز هنگام اسـتفاده از چربی پالم، روغن سویا و پیه به میزان سه درصد جیره و مخلوط چربی پالم، روغن سویا و روغن ماهی به میزان ۳/۲ درصد در جیره گوساله‌ها گزارش شد (Ghasemi et al., 2017). این یافته‌ها با افزایش مشاهده شده در قابلیت هضم ماده خشک و ماده آلی در نتیجه استفاده از نمک کلسـیمی کتان در پژوهش حاضـر مطابقت ندارد. در فراتحلیل انجام شـده روی گاوهای شـیرده گزارش شـده اسـت به‌غیر از مکمل‌های اسیدهای چرب اشباع متوسط زنجیر، مکمل‌های چربی یا تاثیری بر قابلیت هضم نداشته است و یا قابلیت هضم مواد مغذی، بخصوص الیاف نامحلول در شـوینده خنثی را افزایش داده‌اند (Weld and Armentano, 2017). افزایش قبلیت هضم الیاف نامحلول در شوینده خنثی می‌تواند به دلیل بهبود محیط شـکمبه و بویژه pH بالاتر در نتیجه کاهش مصرف نشاسته منابع کربوهیدراته در شرایط استفاده از چربی باشـد (Allen, 2000). در مواردی که اسـتفاده از چربی موجب افزایش هضم پذیری خوراک شده است بیان شده که کاهش سرعت عبور خوراک، زمان ماندگاری آن در شـکمبه را افزایش داده که نهایتا قابلیت هضـم ماده خشـک و مواد مغذی را افزایش می‌دهد (Allen, 2000). همچنین این امکان وجود دارد که نمک های کلسـیمی اسیدهای چرب غیر اشباع موجب ترشح کوله سیستوکینین در روده شوند که این هورمون در افزایش قابلیت هضم مواد مغذی دخیل است (Harvatine and Allen, 2006).

در ارتباط با تاثیر عنصـر روی بر قابلیت هضـم مواد مغذی در گوساله‌های شیری اطلاعات محدودی در دست می‌باشد. قابلیت هضم ماده خشک، ماده آلی و عصاره اتری در بره‌ها تحت تاثیر منبع عنصر

روی قرار نگرفت، اما پروتئین خام و قابلیت هضـــم الیاف نامحلول در شـــوینده خنثی در تیمار روی آلی بهبود یافت (Mallaki et al., 2015). در مقابل افزودن مکمل ســـولفات روی و یا روی-متیونین به جیره گوســالەهای گاومیش در حال رشــد موجب بهبود قابلیت هضــم کلیه مواد مغذی در مقایســه با تیمار شــاهد شــد (Hassan et al., 2016). محققین در اســتفاده از منابع مختلف روی شـــامل روی-متیونین، روی-پروتئینات، روی-گلی سینات و روی- سولفات به میزان ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماده خشـــک جیره در تغذیه بره‌ها، افزایش معنی‌داری در قابلیت هضم ماده آلی، پروتئین خام و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نسبت به تیمار شاهد گزارش کردند (Alimohamady et al., 2018). به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر، غلظت روی در جیره پایه به اندازه‌ای بوده که تامین کننده نیازمندی‌های میکروارگانیسم‌های شکمبه باشد و در رویه هضم تداخل ایجاد ننماید.

جدول ۳- تاثیر جیره‌های آزمایشی بر قابلیت هضم ظاهری مواد مغذی (بر حسب درصد)

Table 3- Effect of experimental diets on nutrients apparent digestibility (%)

مورد Item	تیمارها Treatments شاهد CON	 روی-متیونین +Zn	 چربی +Fat	 چربی + روی-متیونین +Fat +Zn	SEM	P- value Fat	 Zn	 Fat×Zn
ماده خشک Dry matter	57.8[b]	60.9[ab]	65.4[a]	66.4[a]	2.44	0.01	0.41	0.66
ماده آلی Organic matter	52.3[b]	56.2[b]	67.8[a]	68.5[a]	2.54	<0.001	0.36	0.53
پروتئین خام Crud protein	64.9	66.4	71.1	71.5	3.73	0.16	0.84	0.84
عصاره اتری Ether extract	52.5	53.8	56.7	56.5	3.62	0.35	0.87	0.83
الیاف نامحلول در شوینده خنثی Neutral Detergent Fiber	57.2	59.8	56.2	63.8	4.15	0.67	0.14	0.48
الیاف نامحلول در شوینده اسیدی Acid Detergent Fiber	44.4	47.9	46.7	50.1	4.24	0.36	0.22	0.79

میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

شاخص‌های رشد اسکلتی

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر شاخص‌های رشد اسکلتی گوساله‌ها در جدول ۴ ارائه شده است. افزودن نمک کلسیمی روغن کتان و مکمل روی-متیونین اثر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد اسکلتی در انتهای دوره شیرخوارگی (روز ۴۹) نداشت. در یک مطالعه، دریافت غلظت‌های بالاتری از اســیدهای چرب n-۳ نســبت به اســیدهای چرب n-۶ به‌صــورت روغن کتان و نمک کلســیمی روغن کتان موجب افزایش ارتفاع هیپ در گوساله‌ها شد (Kadkhoday et al., 2017).

همچنین گزارش شده گوساله‌هایی که دو در صد چربی به صورت نمک کلســیمی روغن‌های ســویا و ماهی دریافت کردند در زمان شــیرگیری و انتهای آزمایش ارتفاع بدن و هیپ بالاتری نســبت گوساله‌های تغذیه شده با جیره‌های بدون چربی داشتند (Jolazadeh et al., 2019). این یافته‌ها با عدم تفاوت مشاهده شـده در آزمایش حاضر در نتیجه استفاده از منبع چربی حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه در تطابق نمی‌باشـد. در تک معده‌ای‌ها نقش تنظیمی اسیدهای چرب n-۳ در باز چرخ استخوان در نوزادان انسان و مدل‌های مختلف حیوانی نشان داده شده است (Kajarabille et al., 2018). به نظر می‌رسد استحکام بالاتر استخوان در شرایط دریافت ســطوح بالای ایکوزا پنتانوئیک اســید، دکوزا هگزانوئیک اســید، آلفا لینولنیک اسید و روی در جیره غذایی به دلیل افزایش رسوب کلسیم و تشکیل کلاژن در استخوان باشد (Vakili et al., 2010).

برخی ایزو آنزیم‌های اســتخوانی (آلکالین فســفاتاز اســتخوانی) وابسته به عنصر روی هستند و توسط استئوبلاست‌های استخوانی تولید می‌شوند. این ایزو آنزیم‌ها نقش مهمی در معدنی شدن استخوان دارند و به عنوان نشــانگر دقیق تشــکیل اســتخوان و فعالیت اســتئوبلاســت‌ها مورد توجه هســتند. کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در حیوانات مواجه با کمبود عنصر روی، موجب کاهش رشد استخوان و بروز ناهنجاری اسکلتی می‌شود (Lakshmi et al., 1991).

جدول ٤- تاثیر جیره‌های آزمایشی بر شاخص‌های رشد اسکلتی گوساله‌ها (بر حسب سانتی‌متر)

Table 4- Effect of experimental diets on structural growth of calves (cm)

مورد Item	تیمارها Treatments شاهد CON	روی-متیونین +Zn	چربی +Fat	چربی + روی-متیونین +Fat +Zn	SEM	P- value Fat	Zn	Fat×Zn
ارتفاع بدن Wither height								
روز ۳ Day 3	75.85	76.57	77.00	75.50	0.81	0.95	0.54	0.12
روز ۴۹ Day 49	83.42	83.39	83.00	82.00	0.89	0.12	0.27	0.25
ارتفاع هیپ Hip height								
روز ۳ Day 3	79.12	79.85	80.14	78.85	0.75	0.99	0.65	0.11
روز ۴۹ Day 49	87.71	88.14	87.85	87.60	1.25	0.24	0.34	0.20
عرض هیپ Hip width								
روز ۳ Day 3	13.57	14.00	13.42	13.40	0.60	0.55	0.72	0.75
روز ۴۹ Day 49	17.71	18.14	18.28	18.20	0.53	0.60	0.79	0.59
طول بدن Body length								
روز ۳ Day 3	48.71	49.04	47.71	47.30	0.90	0.08	0.92	0.52
روز ۴۹ Day 49	53.57	53.42	54.28	52.90	1.03	0.94	0.37	0.45
عمق سینه Heart girth								
روز ۳ Day 3	78.57	78.28	78.77	77.57	0.72	0.50	0.23	0.50
روز ۴۹ Day 49	87.14	88.42	88.57	88.60	1.28	0.54	0.62	0.60
عمق بدن Body barrel								
روز ۳ Day 3	81.00	80.57	80.40	80.14	0.64	0.51	0.59	1.00
روز ۴۹ Day 49	95.85	95.57	96.00	96.14	1.96	0.85	0.97	0.91

میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

افزودن ۶۰ میلی‌گرم عنصر روی به فرم‌های روی-سولفات، روی-لیزین و روی-متیونین به شیر گوساله‌های شیرخوار تاثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشد اسکلتی گوساله‌ها نداشت (Arrayet et al., 2002)؛ در حالیکه گنجاندن مواد معدنی آلی در جایگزین شیر و جیره آغازین تغذیه شده به گوساله‌های شیرخوار در الگوی تغذیه تسریع شده موجب افزایش قد گوساله‌ها به‌صورت افزایش ارتفاع بدن و ارتفاع هیپ شد (Osorio et al., 2012). اگرچه در مطالعه حاضر سطح آنزیم آلکالین فسفاتاز در تیمارهای حاوی مکمل روی آلی افزایش یافته (جدول ۶) اما تاثیری بر رشد اسکلتی گوساله‌ها نداشته است که می‌تواند ناشی از تامین احتیاجات عنصر روی و عدم تاثیر

سطوح بالاتر آن باشد.

وضعیت سلامتی

داده‌های مربوط به اثر افزودن روی-متیونین و نمک کلسیمی روغن کتان به جیره گوساله‌های شیرخوار بر وضعیت سلامت آنها در جدول ۵ ارائه شده است. امتیازهای حالت، ترشحات بینی، روزهای تب، روزهای اسهال و روزهای حالت ضعیف تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. افزودن مکمل نمک کلسیمی روغن کتان موجب کاهش دمای مقعد و بهبود قوام مدفوع نسبت به تیمارهای فاقد چربی شده است (P=۰/۰۴). این یافته موافق با نتایج مطالعات پیشین می‌باشد (Hill et al., 2009; Hill et al., 2011; Warden et al., 2018). کاهش دمای مقعد در نتیجه مصرف منبع آلفا لینولنیک اسید، می‌تواند به دلیل اثرات آلفا لینولنیک اسید و ایکوزانوئیدهای مشتق شده از آن در کاهش بروز پاسخ‌های التهابی باشد (Hill et al., 2009; Hill et al., 2011). کاهش دمای مقعد و پاسخ‌های التهابی بعد از تزریق واکسن‌های پارا آنفولانزا و اسهال ویروسی به گوساله‌ها در نتیجه افزایش مصرف آلفا لینولنیک اسید در جایگزین شیر مشاهده شد (Hill et al., 2011). همچنین گزارش شده در گوساله‌های تغذیه شده با روغن کتان کلسیمی و غیر کلسیمی در جیره آغازین دمای مقعد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت در صورتی که این کاهش در تیمار پودر پالم مشاهده نشد (Kadkhoday et al., 2017).

جدول ۵- تاثیر جیره‌های آزمایشی بر وضعیت سلامتی گوساله‌ها

Table 5- Effect of experimental diets on health status of calves

مورد Item	تیمار Treatments شاهد CON	 روی-متیونین +Zn	 چربی +Fat	 چربی + روی-متیونین +Fat +Zn	SEM	P- value Fat	 Zn	 Fat×Zn
دمای مقعد (سانتی‌گراد) Rectal temperature (°C)	38.93^{a}	38.95^{a}	38.67^{b}	38.73^{b}	0.09	0.04	0.47	0.64
امتیاز مدفوع Faecal score	0.40^{a}	0.36^{ab}	0.27^{b}	0.29^{b}	0.05	0.04	0.77	0.50
امتیاز حالت Attitude score	0.33	0.27	0.26	0.35	0.07	0.92	0.80	0.13
ترشحات بینی Nasal discharge	0.35	0.31	0.32	0.32	0.04	0.52	0.26	0.26
روزهای تب Days with fever	3.28	3.14	2.14	2.28	0.98	0.32	1.00	0.88
روزهای اسهال Days with diarrhoea	6.00	5.42	4.64	5.00	1.30	0.50	0.93	0.72
روزهای حالت ضعیف Days with poor attitude	10.18	8.71	6.85	7.28	2.33	0.69	0.20	0.52

میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

در مورد امتیاز مدفوع نیز مناسب‌ترین امتیازها با مصرف روغن کتان کلسیمی مشاهده شده است. نتایج مطالعه حاضر موافق با مطالعات پیشین در استفاده از اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، متوسط زنجیر و غیر اشباع با چند پیوند دوگانه (n-۳) در جایگزین شیر بود (Hill et al., 2007a; Hill et al., 2007b). اما این نتایج در برخی مطالعات دیگر مشاهده نشد (Garcia et al., 2014; Ghasemi et al., 2017). کدخدایی و همکاران (Kadkhoday et al., 2017) نیز کمترین امتیاز مدفوع و روزهای اسهال را در تیمار دریافت کننده روغن کتان کلسیمی مشاهده کردند. همچنین گوساله‌هایی که دو درصد روغن‌های کلسیمی سویا و ماهی را دریافت کرده بودند دمای مقعد، امتیاز مدفوع و تعداد روزهای اسهال پایین‌تری نسبت به تیمار شاهد داشتند. این نتایج به اثرات ضد التهابی و تسریع در رفع التهاب اسیدهای چرب ضروری نسبت داده شده (Jolazadeh et al., 2019). التهاب حاد یک پاسخ محافظتی از طرف بدن است اما التهاب درمان نشده می‌تواند منجر به بیماری‌های مزمن شود. در حال حاضر، به خوبی درک شده که التهاب حاد موقتی است و برای ترمیم عملکرد بافت باید برطرف شود (Serhan and Levy, 2018). بوتیریک اسید و آلفا لینولنیک اسید می‌توانند از طریق پتانسیل کاهش تولید سایتوکین‌های پیش‌التهابی و تغییر پاسخ ایمنی از پاسخ واسطه سلولی به پاسخ تولید آنتی بادی، موجب کاهش پاسخ التهابی شوند (Hill et

al., 2011). بنابراین اسـیدهای چرب ضـروری از جمله آلفا لینولنیک اســید می‌توانند نقش مهمی در کاهش التهاب و بهبود عملکرد دام داشته باشد.

در آزمایش حاضــر، افزودن روی آلی نتوانســـت موجب بهبود وضعیت سلامت گوساله‌ها شود. با اینحال در برخی مطالعات نشان داده شده مکمل روی می‌تواند موجب افزایش سرعت بهبودی، کاهش تلفات و کاهش اسـتفاده از آنتی بیوتیک‌ها شـود (Bhandari et al., 2008). در مطالعه حاضـر چنین پاسـخی در اسـتفاده از مکمل روی-متیونین مشـــاهده نشـــد. لازم به ذکر اســـت که در آزمایش حاضـــر گوساله‌ها با کمبود عنصر روی مواجه نبودند که این موضوع می‌تواند تا اندازه‌ای توجیه کننده عدم تاثیر مکمل روی-متیونین باشد.

فراسنجه‌های خونی

اثر افزودن مکمل روی-متیونین به جیره‌های با و بدون مکمل روغن کلسیمی کتان بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌های شیرخوار در جدول ۶ ارائه شـده اسـت. غلظت گلوکز، کلسـترول، تری گلیسـرید، آلبومین، پروتئین کل، اوره خون و آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت.

غلظت آنزیم آلانین آمینوترانسـفراز تحت تاثیر افزودن مکمل آلی روی و روغن کلسـیمی کتان تمایل به افزایش نشـان داد (P=۰/۰۸). آنزیم‌هـای ترانس آمینـاز، آلانین آمینوترانســفراز و آسـپـارتـات آمینوترانسفراز به ترتیب تبدیل آمینو اسیدهای آلانین و آسپارتات را در تولید پیروات و اگزالو اســتات کاتالیز می‌کنند. افزایش فعالیت آلانین آمینوتراز سفراز سرم، آسیب سلولی را نشان می‌دهد. افزایش جزئی فعالیت آن مهم نیسـت، زیرا درجه آسـیب کبدی، عامل میزان افزایش در فعالیت آلانین آمینوترانسفراز است (Thrall, 2007). مطالعه‌ای که اثر مکمل آلی روی و چربی غیر اشباع را در گوساله‌های شیرخوار مورد بررسی قرار داده باشد در دسترس نیست.

جدول ٦- تاثیر جیره‌های آزمایشی بر فراسنجه‌های خونی گوساله‌ها

Table 6- The effect of experimental diets on blood parameters of calves

مورد Item	تیمار Treatments شاهد CON	روی- متیونین +Zn	چربی +Fat	چربی + روی-متیونین +Fat +Zn	SEM	P- value Fat	Zn	Fat×Zn
گلوکز (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) Glucose (mg/dl)	82.0	84.3	85.5	89.0	4.20	0.20	0.37	0.86
کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) Cholesterol (mg/dl)	90.2	91.4	95.4	96.3	6.57	0.44	0.89	0.97
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) Triglyceride (mg/dl)	39.1	40.8	46.2	45.8	5.02	0.24	0.90	0.83
پروتئین کل (گرم بر دسی‌لیتر) Total protein (g/dl)	5.83	6.01	6.23	5.81	0.30	0.74	0.68	0.33
نیتروژن اوره‌ای خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) Blood urea N (mg/dl)	26.8	27.4	24.3	25.6	2.81	0.45	0.72	0.91
آلکالین فسفاتاز (واحد بر لیتر) Alkaline phosphatase (units/l)	8.14[b]	10.21[a]	8.00[b]	11.70[a]	0.73	0.36	<0.001	0.27
آسپارتات آمینوترانسفراز (واحد بر لیتر) Aspartate aminotransferase (units/l)	44.7	42.6	43.0	48.6	5.75	0.71	0.75	0.51
آلانین آمینوتراسفراز (واحد بر لیتر) Alanine aminotransferase (units/l)	23.7	30.0	28.2	25.5	3.6	0.42	0.57	0.08

میانگین‌ها در هر ردیف با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<۰/۰۵).

Means within same row with different superscripts differ (P<0.05).

غلظت آنزیم آلکالین فســفاتاز در نتیجه افزودن مکمل روی-متیونین افزایش یافت (P<۰/۰۰۱). موافق با نتایج این آزمایش

علیمحمدی و همکاران (Alimohamady et al., 2018) با تغذیه بره ها با ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عنصـــر روی به فرم های روی-سـولفات، روی-متیونین، روی-پروتئینات و روی-گلیسـینات، افزایش غلظت آلکالاین فســفاتاز در خون را گزارش نمودند. آلکالین فســفاتاز یک آنزیم وابسته به روی است که در جایگاه فعال خود با حضور چهار عنصر روی حداکثر فعالیت را نشان می‌دهد. این آنزیم در جذب کلسیم و رشد حیوان دخالت داشته و به عنوان یک نشانگر از وضعیت روی بدن و تشکیل استخوان مورد توجه است (Lakshmi et al., 1991). افزایش غلظت آنزیم آلکالین فسـفاتاز در مطالعه حاضـر را می‌توان به افزایش جذب عنصر روی از منبع ترکیب آلی روی-متیونین نسبت داد. اما در این مطالعه افزایش آنزیم آکالین فســـفاتاز موجب بهبود رشـــد اسکلتی با توجه به نقش این آنزیم در رشد و توسعه سیستم اسکلتی نشده است.

نتیجه‌گیری کلی

یافته های این تحقیق نشـــان داد که برهمکنش مکمل روی-متیونین و روغن کلسیمی کتان تاثیری بر عملکرد رشد، قابلیت هضم مواد مغذی و سـلامتی گوسـاله‌های شـیرخوار هلشـتاین ندارد. روغن کلســیمی کتان موجب بهبود قابلیت هضـم ماده خشــک، ماده آلی و شـاخص‌های سـلامتی شـامل دمای مقعد و امتیاز مدفوع شـد. پس می‌توان نتیجه گرفت که در تغذیه روغن گیاهی محافظت شـده کتان در جیره گوساله‌های شیرخوار که حاوی سطوح بالای اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد، علاوه بر نقش مفید آن در بهبود وضعیت سلامت گوســاله، نقش تأثیرگذار آن بر افزایش شــاخص‌های قابلیت هضــم ظاهری خوراک نیز می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

از دانشــگاه علوم کشــاورزی و منابع طبیعی خوزســتان به خاطر حمایت مالی از این پژوهش در قالب رســاله دکتری تشــکر به عمل می‌آید. همچنین نویســندگان مراتب قدردانی خود از شــرکت تعاونی کیمیا دانش الوند به دلیل فراهم نمودن نمک کلســیمی روغن کتان و دامپروری نگین فام خوزســتان جهت فراهم نمودن امکان انجام آزمایش مزرعه‌ای را اعلام می‌دارند.

Refrences

1. Alimohamady, R., H. Aliarabi, R. M. Bruckmaier, and R. G. Christensen. 2018. Effect of Different Sources of Supplemental Zinc on Performance, Nutrient Digestibility, and Antioxidant Enzyme Activities in Lambs. Biological Trace Element Research, 189(1): 75-84. DOI: 10.1007/s12011-018-1448-1.
2. Allen, M. S. 2000. Effects of diet on short-term regulation of feed intake by lactating dairy- cattle. Journal of Dairy Science, 83: 1598-1624. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75030-2.
3. AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
4. Arrayet, J. L., A. M. Oberbauer, T. R. Famula, I. Garnett, J. W. Oltjen, J. Imhoof, M. E. Kehrli, Jr., and T. W. Graham. 2002. Growth of Holstein calves from birth to 90 days: The influence of dietary zinc and BLAD status. Journal of Animal Science, 80:545-552. DOI: 10.2527/2002.803545x.
5. Ayala, S., and R. R. Brenner. 1983. Essential fatty acid status in zinc deficiency. Effect on lipid and fatty acid composition, desaturation activity and structure of microsomal membranes of rat liver and testes. Acta Physiologica Latino Americana, 33(3): 193-204.
6. Bhandari, N., S. Mazumder, S. Taneja, B. Dube, R. Agarwal, D. Mahalan-abis, O. Fontaine, R. E. Black, and M. K. Bhan. 2008. Effectiveness of zinc supplementation plus oral rehydration salts compared with oralrehydration salts alone as a treatment for acute diarrhea in a primarycare setting: a cluster randomized trial. Pediatrics, 12: e1279–e1285. DOI: 10.1542/peds.2007-1939.
7. Conneely, M., D. P. Berry, R. Sayers, J. P. Murphy, M. L. Doherty, I. Lorenz, and E. Kennedy. 2014. Does iodine supplementation of the prepartum dairy cow diet affect serum immunoglobulin G concentration, iodine, and health status of the calf?. Journal of Dairy Science, 97(8): 5120–5130. DOI: 10.3168/jds.2013-7867.
8. Cunnane S. C. and I. Krieger. 1988. Long chain fatty acids in serum phosphoLipids in

acrodermatitis enteropathica before and after zinc treatment: a case report. Journal of the American College of Nutrition, 7(3): 249-50. DOI: 10.1080/07315724.1988.10720242.

9. Doolatabad, S. S., M. Sari, and G. R., Ghorbani. 2020. Effect of partial replacement of dietary starch with fiber and fat on performance, feeding behavior, ruminal fermentation and some blood metabolites of Holstein calves. Animal Feed Science and Technology, 270, p.114691. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2020. 114691.
10. Drackley, J. K. 2008. Calf nutrition from birth to breeding. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 24(1): 55-86. DOI: 10.1016/j.cvfa.2008.01.001.
11. Eder, K. and M. Kirchgessner. 1996. Zinc deficiency and the desaturation of linoleic acid in rats force-fed fat-free diets. Biological Trace Element Research, 54(2): 173-183. DOI: 10.1007/BF02786264.
12. Eryavuz, A., and B. A. Dehority. 2009. Effects of supplemental zinc concentration on cellulose digestion and cellulolytic and total bacterial numbers in vitro. Animal Feed Science and Technology, 151(3-4): 175-183. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2009.01.008.
13. Garcia Orellana, M. 2012. Effect of supplementing essential fatty acids to prepartum Holstein cows and preweaned calves on calf performance, metabolism, immunity, health and hepatic gene expression. PhD Thesis, University of Florida, Gainesville.
14. Garcia, M., J. Shin, A. Schlaefli, L. Greco, F. Maunsell, J. Santos, C. Staples, and W. Thatcher. 2015. Increasing intake of essential fatty acids from milk replacer benefits performance, immune responses, and health of preweaned Holstein calves. Journal of Dairy Science, 98(1): 458-477. DOI: 10.3168/jds.2014-8384.
15. Garcia, M., L. F. Greco, M. G. Favoreto, R. S. Marsola, L. T. Martins, R. S. Bisinotto, and J. E. P. Santos. 2014. Effect of supplementing fat to pregnant nonlactating cows on colostral fatty acid profile and passive immunity of the newborn calf. Journal of Dairy Science, 97: 392-405. DOI: 10.3168/jds.2013-7086.
16. Ghasemi, E., M. Azad-Shahraki, and M. Khorvash. 2017. Effect of different fat supplements on performance of dairy calves during cold season. Journal of Dairy Science, 100(7): 5319-5328. DOI: 10.3168/jds.2016-11827.
17. Greene, L. W., D. K.Lunt, F. M. Byers, N. K. Chirase, C. E. Richmond, R. E. Knutson, and G. T. Schelling. 1988. Performance and carcass quality of steers supplemented with zinc oxide or zinc methionine. Journal of Animal Science, 66(7): 1818-1823. DOI: 10.2527/jas1988.6671818x.
18. Harvatine, K. J. and M. S. Allen. 2006. Effects of fatty acid supplements on milk yield and energy balance of lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 89(3): 1081-1091. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06) 72176-2.
19. Hassan, E. H., M. M. Farghaly, and G. M. Solouma. 2016. Effect of zinc supplementation from inorganic and organic sources on nutrient digestibility, some blood metabolites and growth performance of growing buffalo calves. Egyptian Journal of Nutrition and Feeds, 19 (1): 37-46. DOI: 10.21608/ejnf.2016.74863.
20. Hill, T., H. Bateman, J. Aldrich, and R. Schlotterbeck. 2009. Effects of changing the essential and functional fatty acid intake of dairy calves. Journal of Dairy Science, 92: 670-676. DOI: 10.3168/jds.2008-1368.
21. Hill, T., H. Bateman, J. Aldrich, and R. Schlotterbeck. 2011. Effect of various fatty acid on dairy calf performance. The Professional Animal Scientist, 27(3): 167-175. DOI: 10.15232/S1080-7446(15)30470-8.
22. Hill, T., H. Bateman, J. Aldrich, J. Quigley, and R. Schlotterbeck. 2015. Inclusion of tallow and soybean oil to calf starters fed to dairy calves from birth to four months of age on calf performance and digestion. Journal of Dairy Science, 98(7): 4882-4888. DOI: 10.3168/jds.2015-9376.
23. Hill, T., J. Aldrich, R. Schlotterbeck, and H. Bateman. 2007a. Effects of changing the fat and fatty acid composition of milk replacers fed to neonatal calves. The Professional Animal Scientist,

23(2): 135-143. DOI: 10.15232/S10807446(15)30953-0.
24. Hill, T., J. Aldrich, R. Schlotterbeck, and H. Bateman. 2007b. Amino acids, fatty acids, and fat sources for calf milk replacers. The Professional Animal Scientist, 23(4): 401-408. DOI: 10.15232/S1080-7446(15) 30995-5.
25. Hill, T., J. Aldrich, R. Schlotterbeck, and H. Bateman. 2007c. Effects of changing the fatty acid composition of calf starters. The Professional Animal Scientist, 23: 665-671. DOI: 10.15232/S1080-7446(15)31038-X.
26. Jenkins, T. C. 1993. Lipid metabolism in the rumen. Jouranal of Dairy Science, 76(12): 3851-3863. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(93)77727-9.
27. Jolazadeh, A. R., T. Mohammadabadi, M. Dehghan-banadaky, M. Chaji, and M. Garcia. 2019. Effect of supplementation fat during the last 3 weeks of uterine life and the preweaning period on performance, ruminal fermentation, blood metabolites, passive immunity and health of the newborn calf. British Journal of Nutrition, 122(12): 1346-1358. DOI: 10.1017/S0007114519002174.
28. Justus, J. and E. Weigand. 2014. The Effect of a Moderate Zinc Deficiency and Dietary Fat Source on the Activity and Expression of the Δ3Δ2-Enoyl-CoA Isomerase in the Liver of Growing Rats. Biological Trace Element Research, 158(3): 365-375. DOI: 10.1007/s12011-014-9940-8.
29. Kadkhoday, A., A. Riasi, M.Alikhani, M. Dehghan-Banadaky, and R. Kowsar. 2017. Effects of fat sources and dietary C18:2 to C18:3 fatty acids ratio on growth performance, ruminal fermentation and some blood components of Holstein calves. Livestock Science, 204: 71-77. DOI: 10.1016/j.livsci.2017.08.012.
30. Kajarabille, N., M. Pe˜na, J. Díaz-Castro, J. A. Hurtado, L. Peña-Quintan, C. Iznaola, Y. Rodríguez-Santana, E. Martin-Alvarez, M., López-Frias, F. Lara-Villoslada, and J. J. Ochoa. 2018. Omega-3 LCPUFA supplementation improves neonatal and maternal bone turnover: a randomized controlled trial. Journal of Functional Foods, 46:167-174. DOI: 10.1016/j.jff.2018.04.065.
31. Lakshmi, R., R. Kundu, E. Thomas, and A. P. Mansuri. 1991. Mercuric Chloride Induced Inhibition of Acid and Alkaline Phosphatase Activity in the Kidney of Mudskipper, *Boleophthalmus dentatus*. Acta hydrochimica et hydrobiologica, 19(3):341-344. DOI: 10.1002/aheh.19910190314.
32. Lesmeister, K. E. and A. J. Heinrichs. 2005. Effects of adding extra molasses to a texturized calf starter on rumen development, growth characteristics, and blood parameters in neonatal dairy calves. Journal of Dairy Science, 88: 411-418. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72702-8.
33. Mallaki, M., M. A. Norouzian, and A. A. Khadem. 2015. Effect of organic zinc supplementation on growth, nutrient utilization, and plasma zinc status in lambs. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 39:75-80. DOI: 10.3906/vet-1405-79.
34. Mandal G. P., R. S. Dass, D. R. Isore, A. K. Garg, and G. C. Ram. 2007. Effect of zinc supplementation from two sources on growth, nutrient utilization and immune response in male crossbred cattle (*Bosindicus* × *Bostaurus)* bulls. Animal Feed Science and Technology, 138(1): 1-12. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2006.09 .014.
35. McDowell, L. R. 1992. Minerals in Animal and Human Nutrition. Academic Press, New York, NY, USA, P. 272. DOI: 10.1016/B978-0-444-51367-0.X5001-6.
36. McDowell, L. R. 2003. Chapter 12 - Zinc. Pages 357-395 in Minerals in Animal and Human Nutrition, 2nd ed. L. R. McDowell, ed. Elsevier, Philadelphia, PA. DOI: 10.1016/B978-0-444-51367-0.X5001-6.
37. Osorio, J. S., R. L.Wallace, D. J. Tomlinson, T. J. Earleywine, M. T. Socha, and J. K. Drackley. 2012. Effects of source of trace minerals and plane of nutrition on growth and health of transported neonatal dairy calves. Journal of Dairy Science, 95(10): 5831-5844. DOI: 10.3168/jds.2011-5042.
38. Parashuramulu, S., D. Nagalakshmi, D. Srinivasa Rao, M. Kishan Kumar, and P. S. Swain. 2015. Effect of Zinc Supplementation on Antioxidant Status and Immune Response in Buffalo Calves.

Animal Nutrition and Feed Technology, 15: 179-188. DOI: 10.5958/0974-181X.2015.00020.7.
39. Patterson, E., R. Wall, G. Fitzgerald, R. Ross, and C. Stanton. 2012. Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids. Journal of nutrition and metabolism, 2012(2): 539426. DOI: 10.1155/2012/539426.
40. Ryan, A. W., E. B. Kegley PAS, J. Hawley, J. G. Powell, J. A. Hornsby, J. L. Reynolds, and S. B. Laudert. 2015. Supplemental trace minerals zinc, copper, and manganese (as sulfates, organic amino acid complexes, or hydroxyl tracemineral sources for shipping stressed calves. The Professional Animal Scientist, 31(4): 333-341. DOI: 10.15232/pas.2014-01383.
41. Serhan, C. N., and B. D. Levy. 2018. Resolvins in inflammation: emergence of the pro-resolving superfamily of mediators. Journal of Clinical Investigation, 128(7): 2657-2669. DOI: 10.1172/JCI97943.
42. Simopoulos, A. P. 2002. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. Journal of the American College of Nutrition, 21(6): 495-505. DOI: 10.1080/07315724.2002.10719248.
43. Spears, J., and E. Keeley. 1991. Effect of zinc and manganese methionine on performance of beef cows and calves. Journal of Animal Science, 69 (Suppl 1): 59.
44. Suttle, N. F. 2010. The Mineral Nutrition of Livestock. CABI Publishing, New York.
45. Thrall, M. 2007. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária 1st ed. Roca: São Paulo, p. 335-354.
46. Vakili, R., A. A. Rashidi, and S. Sobhanirad. 2010. Effects of dietary fat, vitamin E and zinc supplementation on tibia breaking strength in female broilers under heat stress. African Journal of Agricultural Research, 5(23): 3151-3156. DOI: 10.5897/AJAR10.247.
47. Van Keulen, J., and B. A. Young. 1977. Evaluation of acid insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. Journal of Animal Science, 44 (2): 282-287. DOI: 10.2527/jas1977.442282x.
48. Van Soest, P. J, J. b. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber, and non- starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74(10): 3583-3597. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2.
49. Warden, L. C., M. G. Erickson, S. Grarmer, C. Tap, C. Ylioja, N. Trottier, C. L. Preseault, M. J. VandeHaar, A. L. Lock, and E. L. Karcher. 2018. Decreasing the dietary ratio of omega-6 to omega-3 fatty acids increases the omega-3 concentration of peripheral blood mononuclear cells in weaned Holstein heifer calves. Journal of Dairy Science, 101(2): 1227-1233. DOI: 10.3168/jds.2017-12696.
50. Weld, K. A., and L. E. Armentano. 2017. The effects of adding fat to diets of lactating dairy cows on total-tract neutral detergent fiber digestibility: A meta-analysis. Journal of Dairy Science, 100: 1766-1779. DOI: 10.3168/jds.201611500.
51. Wright, C. L., and J. W. Spears. 2004. Effect of zinc source and dietary level on zinc metabolism in Holstein calves. Journal of Dairy Science, 87(4): 1085-1091. DOI: 10.3168/jds.s0022-0302(04)73254-3.